

# GABA<sub>A</sub>受体与七氟烷致幼小鼠遗忘作用和自主活动抑制作用的关系研究<sup>Δ</sup>

张科学\*,赵佳佳,吴月红,田环环,刘远航,徐青荣,刘 强,姚 瑞,孙大贺,江 维,戴体俊<sup>#</sup>(徐州医学院,江苏徐州 221002)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)29-2704-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.29.07

**摘 要** 目的:研究γ-氨基丁酸A(GABA<sub>A</sub>)受体与七氟烷(S)致幼小鼠遗忘作用和自主活动抑制作用的关系。方法:取幼小鼠随机分为3大组(n=80),分别进行自主活动、跳台和避暗实验,再将每大组幼小鼠随机分为空白对照组(生理盐水10 ml/kg),S组(3.0 ml/kg),GABA<sub>A</sub>受体特异性阻滞药一叶菝碱(Se)低、中、高剂量组(2、4、8 mg/kg)及其联用低、中、高剂量组(S 3.0 ml/kg+Se 2、4、8 mg/kg),每组10只。实验开始时予幼小鼠腹腔注射Se或生理盐水,10 min后皮下注射S,记录末次给药后15、30、45、60 min时自主活动实验幼小鼠5 min内的自主活动次数,末次给药后1、2 d时跳台和避暗实验步入潜伏期、跳下潜伏期和错误次数。结果:与空白对照组比较,S组幼小鼠给药后15、30、45 min时的自主活动次数明显减少,给药后1 d的步入潜伏期、跳下潜伏期均明显缩短,其相应错误次数均明显增加(P<0.05);联用低、中、高剂量组幼小鼠给药后15 min时的自主活动次数明显减少(P<0.05)。与S组比较,联用高剂量组幼小鼠给药后1 d的步入潜伏期、跳下潜伏期均明显延长,其相应错误次数均明显减少(P<0.05)。其余各组指标间差异无统计学意义(P>0.05)。结论:GABA<sub>A</sub>受体参与了S的遗忘作用,但S对自主活动的抑制作用与GABA<sub>A</sub>受体无关。  
**关键词** 七氟烷;遗忘;自主活动;受体;γ-氨基丁酸A;幼小鼠

## Relationship of GABA<sub>A</sub> Receptor with Sevoflurane-induced Spontaneous Motor Activity Inhibition and Amnesia in Juvenile Mice

ZHANG Ke-xue, ZHAO Jia-jia, WU Yue-hong, TIAN Huan-huan, LIU Yuan-hang, XU Qing-rong, LIU Qiang, YAO Rui, SUN Da-he, JIANG Wei, DAI Ti-jun(Xuzhou Medical College, Jiangsu Xuzhou 221002, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To investigate relationship of γ-aminobutyric acid type A (GABA<sub>A</sub>) receptor with sevoflurane (S)-induced spontaneous motor activity inhibition and amnesia in juvenile mice. METHODS: Juvenile mice were randomly divided into 3 groups (n=80) and included in spontaneous motor activity test, step-down test and step-through test. Each group was subdivided into blank control group (NS 10 ml/kg), S group (3.0 ml/kg), special GABA<sub>A</sub> receptor blocker Securinine (Se) low-dose, medium-dose and high-dose groups (2, 4, 8 mg/kg), drug combination low-dose, medium-dose and high-dose groups (S 3.0 ml/kg+Se 2, 4, 8 mg/kg) with 10 mice in each group. The mice received intraperitoneal injection of Se or NS at the beginning of experiment and 10 min later received hypodermic injection of S. The times of spontaneous motor activity within 5 min were recorded 15, 30, 45 and 60 min after last administration, and the step-through latency, step-down latency and error times of step-down test and step-through test were recorded 1 d and 2 d after last administration. RESULTS: Compared with blank control group, the times of spontaneous motor activity in S group decreased significantly 15, 30 and 45 min after medication, and step-through latency and step-down latency shortened significantly 1 d after medication, while error times increased significantly (P<0.05); the times of spontaneous motor activity in drug combination low-dose, medium-dose and high-dose groups decreased significantly 15 min after medication (P<0.05). Compared with S group, step-through latency and step-down latency prolonged significantly in drug combination high-dose group 1 d after medication, while the error times decreased significantly (P<0.05). Other index of each group had no statistical significance (P>0.05). CONCLUSIONS: S can also induce amnesia, and GABA<sub>A</sub> receptor is involved in this effect. S can decrease the times of spontaneous motor activity, but GABA<sub>A</sub> receptor isn't involved in this effect.

**KEY WORDS** Sevoflurane; Amnesia; Spontaneous motor activity; Receptor; GABA<sub>A</sub>; Juvenile mice

=====

- 尔.战略历程:纵览战略管理学派[M].刘瑞红,徐佳宾,郭武文,译.2版.北京:机械工业出版社,2002:6-9.
- [4] 雷银生.企业战略管理教程[M].2版.北京:清华大学出版社,2010:15-20.
- [5] 赵顺龙.企业战略管理[M].北京:经济管理出版社,2008:

- 9-13.
- [6] 代海涛.企业战略管理[M].北京:北京大学出版社,2011:26-32.
- [7] 张玉杰.公司战略:谋划与执行[M].北京:企业管理出版社,2012:3-6.
- [8] 刘冀生.企业战略管理[M].北京:清华大学出版社,2003:15-20.
- [9] 徐二明.企业战略管理[M].北京:中国经济出版社,2008:17-20.

Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.30872432)  
\* 硕士研究生。研究方向:麻醉药物作用机制。E-mail:zkk301@163.com  
# 通信作者:教授。研究方向:麻醉药理学。电话:0516-85582073。E-mail:daitijun@163.com

(收稿日期:2012-11-01 修回日期:2013-03-03)

七氟烷(Sevoflurane, S)是临床常用的吸入麻醉药。吸入麻醉药的全身麻醉作用包括镇痛、催眠、遗忘、肌松和抑制神经系统异常应激反应等<sup>[1]</sup>,目前其作用机制仍不清楚。研究认为<sup>[2-4]</sup>, $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA)是哺乳动物中枢神经系统中重要的抑制性神经递质,其亚型GABA<sub>A</sub>受体是麻醉药全身麻醉作用的重要途径。本实验以幼小鼠为实验对象,观察S对幼小鼠的遗忘作用与自主活动抑制作用,并用不同剂量的能透过血脑屏障的GABA<sub>A</sub>受体特异性阻滞药一叶萩碱(Securinine, Se)探讨S的以上作用与GABA<sub>A</sub>受体的关系,为临床合理选择麻醉方案提供新的思路。

## 1 材料

YLS-1A多功能小鼠自主活动记录仪(安徽淮北正华生物仪器有限公司);BA2200小鼠避暗仪、DT2200跳台仪(成都泰盟科技有限公司)。

S(易挥发液体,日本丸石制药株式会社,批号:9601,规格:每瓶120 ml);Se注射液(北京市永康药业有限公司,批号:090731,规格:8 mg/2 ml)。

昆明种清洁级小鼠240只,♀♂各半,9~10 d龄,体质量8~13 g,由徐州医学院实验动物中心提供,许可证号:SCXK(苏)2010-0003。实验前2 d使幼小鼠熟悉实验室环境,自由饮食、摄水,实验于每日同一时间段进行。

## 2 方法

### 2.1 分组与给药

按分层随机设计,240只幼小鼠均分为3大组( $n=80$ ),分别进行自主活动、跳台和避暗实验;将每大组幼小鼠随机分8小组,即空白对照(C)组(生理盐水10 ml/kg),S组(3.0 ml/kg),Se低、中、高剂量(Se<sub>1</sub>、Se<sub>2</sub>、Se<sub>3</sub>)组(2、4、8 mg/kg)及其联用低、中、高剂量(S+Se<sub>1</sub>、S+Se<sub>2</sub>、S+Se<sub>3</sub>)组(S 3.0 ml/kg+Se 2、4、8 mg/kg),每组10只。实验开始时腹腔注射Se或生理盐水,10 min后皮下注射S。给药剂量的选取由预实验所得:S 3.0 ml/kg,Se 4 mg/kg作用较为稳定。为研究剂量与作用强度的关系S选择2、4、8 mg/kg 3种剂量。

### 2.2 自主活动实验

应用YLS-1A多功能小鼠自主活动记录仪记录末次给药后15、30、45、60 min时自主活动实验8小组幼小鼠5 min内的自主活动次数。

### 2.3 跳台实验

参照文献<sup>[5]</sup>介绍的方法行跳台实验。训练时,先将给药后跳台实验的8小组幼小鼠放入反应箱内适应环境3 min,以36 V、50 Hz交流电给予电击。幼小鼠受电击,正常反应是跳回平台以躲避伤害性刺激。多数幼小鼠可能再次或多次跳至铜栅上,受到电击后又迅速跳回平台,如此训练5 min。然后记录8小组幼小鼠末次给药后1、2 d时行跳台实验时第1次跳下平台的潜伏期(跳下潜伏期)和3 min内受到电击的次数(错误次数)。若幼小鼠3 min内未跳下平台,错误次数记为0次,跳下潜伏期记为180 s。

### 2.4 避暗实验

参照文献<sup>[6]</sup>介绍的方法行避暗实验。训练时,先将给药后避暗实验的8小组幼小鼠放入反应箱中,适应环境3 min,然后取出。向暗室底部铜栅通36 V、50 Hz交流电,再将幼小鼠背对洞口放入明室,幼小鼠进入暗室则受到电击。然后记录8小

组幼小鼠末次给药后1、2 d时行避暗实验时第1次进入暗室的时间(步入潜伏期)和5 min内受到电击的次数(错误次数)。若幼小鼠5 min内未进入暗室,错误次数记为0次,步入潜伏期记为300 s。

## 2.5 统计学处理

采用SPSS 13.0统计学软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 自主活动实验

与C组比较,S组幼小鼠末次给药后15、30、45 min的自主活动次数明显减少( $P < 0.05$ ),S+Se<sub>1</sub>组、S+Se<sub>2</sub>组、S+Se<sub>3</sub>组幼小鼠末次给药后15 min的自主活动次数明显减少( $P < 0.05$ ),其余各组幼小鼠的自主活动次数无明显变化( $P > 0.05$ ),提示S可减少幼小鼠自主活动次数,降低幼小鼠神经系统兴奋性。与S组比较,S+Se<sub>1</sub>、S+Se<sub>2</sub>、S+Se<sub>3</sub>组幼小鼠4个时间点的自主活动次数均无明显变化( $P > 0.05$ ),提示S对神经系统兴奋性的抑制作用与GABA<sub>A</sub>受体无关。各组幼小鼠不同时间的自主活动次数比较见表1。

表1 各组幼小鼠不同时间的自主活动次数比较( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Tab 1 Comparison of the times of spontaneous motor activity in juvenile mice among groups( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	末次给药后			
	15 min	30 min	45 min	60 min
C组	100 ± 38	62 ± 39	66 ± 43	45 ± 35
S组	34 ± 28*	32 ± 22*	40 ± 28*	59 ± 33
Se <sub>1</sub> 组	87 ± 29	54 ± 41	52 ± 27	42 ± 23
Se <sub>2</sub> 组	90 ± 31	50 ± 20	50 ± 19	38 ± 22
Se <sub>3</sub> 组	88 ± 34	63 ± 38	46 ± 20	46 ± 24
S+Se <sub>1</sub> 组	48 ± 31*	44 ± 38	47 ± 32	51 ± 46
S+Se <sub>2</sub> 组	46 ± 34*	47 ± 40	50 ± 41	70 ± 36
S+Se <sub>3</sub> 组	44 ± 30*	46 ± 31	63 ± 50	50 ± 40

与C组比较: \* $P < 0.05$

vs. group C: \* $P < 0.05$

### 3.2 跳台实验

与C组比较,S组幼小鼠给药后1 d的跳下潜伏期明显缩短,错误次数明显增加( $P < 0.05$ ),其余各组幼小鼠的跳下潜伏期和错误次数均无明显变化( $P > 0.05$ )。与S组比较,S+Se<sub>3</sub>组幼小鼠给药后1 d的跳下潜伏期明显延长、错误次数明显减少( $P < 0.05$ )。提示S对幼鼠产生了遗忘作用,GABA<sub>A</sub>受体可能参与其作用。各组幼小鼠给药后不同时间的跳下潜伏期和错误次数比较见表2。

### 3.3 避暗实验

与C组比较,S组幼小鼠给药后1 d的步入潜伏期明显缩短,错误次数明显增加( $P < 0.05$ ),其余各组幼小鼠的步入潜伏期和错误次数均无明显变化( $P > 0.05$ )。与S组比较,S+Se<sub>3</sub>组幼小鼠给药后1 d的步入潜伏期明显延长,错误次数明显减少( $P < 0.05$ )。提示S对幼鼠产生了遗忘作用,GABA<sub>A</sub>受体可能参与其作用。各组幼小鼠给药后不同时间的步入潜伏期和错误次数比较见表3。

## 4 讨论

本实验进行前,对S的用药选择了1.5、3.0、4.5 ml/kg 3个

表2 各组幼小鼠给药后不同时间的跳下潜伏期和错误次数比较( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Tab 2 Comparison of step-through latency and error times in juvenile mice after medication among groups( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	给药后1 d		给药后2 d	
	错误次数	跳下潜伏期, s	错误次数	跳下潜伏期, s
C组	0.7 ± 0.4	143 ± 72	0.7 ± 0.4	141 ± 64
S组	1.5 ± 1.0*	52 ± 45*	0.6 ± 0.8	139 ± 56
Se <sub>1</sub> 组	0.7 ± 0.6	142 ± 69	0.7 ± 0.5	140 ± 63
Se <sub>2</sub> 组	0.8 ± 0.7	180 ± 49	0.7 ± 0.6	131 ± 62
Se <sub>3</sub> 组	0.9 ± 0.5	129 ± 68	0.7 ± 0.3	160 ± 44
S+Se <sub>1</sub> 组	1.2 ± 1.1	96 ± 66	1.0 ± 0.6	142 ± 57
S+Se <sub>2</sub> 组	1.1 ± 0.9	115 ± 74	0.7 ± 0.5	150 ± 55
S+Se <sub>3</sub> 组	0.6 ± 0.5#	131 ± 57#	0.7 ± 0.4	152 ± 56

与C组比较: \* $P < 0.05$ ; 与S组比较: # $P < 0.05$

vs. group C: \* $P < 0.05$ ; vs. group S: # $P < 0.05$

表3 各组幼小鼠给药后不同时间的步入潜伏期和错误次数比较( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Tab 3 Comparison of step-down latency and error times in juvenile mice after medication among groups( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	给药后1 d		给药后2 d	
	错误次数	步入潜伏期, s	错误次数	步入潜伏期, s
C组	1.1 ± 0.7	107 ± 89	0.9 ± 0.5	241 ± 97
S组	3.2 ± 2.4*	69 ± 32*	1.2 ± 1.0	160 ± 109
Se <sub>1</sub> 组	1.8 ± 1.0	87 ± 55	0.9 ± 0.5	179 ± 91
Se <sub>2</sub> 组	1.9 ± 1.0	88 ± 69	1.0 ± 0.5	217 ± 133
Se <sub>3</sub> 组	1.3 ± 0.8	84 ± 73	0.9 ± 0.4	220 ± 130
S+Se <sub>1</sub> 组	2.2 ± 1.3	95 ± 85	1.1 ± 0.8	199 ± 119
S+Se <sub>2</sub> 组	2.4 ± 1.5	88 ± 64	1.3 ± 1.1	183 ± 100
S+Se <sub>3</sub> 组	1.3 ± 0.6#	128 ± 95#	1.2 ± 0.9	186 ± 99

与C组比较: \* $P < 0.05$ ; 与S组比较: # $P < 0.05$

vs. group C: \* $P < 0.05$ ; vs. group S: # $P < 0.05$

剂量进行预实验,结果显示S为3.0 ml/kg时对幼小鼠影响较为稳定,因此本实验中S的给药剂量为3.0 ml/kg。同时为避免腹腔注射S后导致的幼小鼠腹腔炎症反应对实验结果的影响,故实验采用皮下注射S的方法。

动物的自主活动情况反映其中枢神经系统的功能状态,兴奋时活动次数增加,抑制时活动次数减少,所以小鼠自主活动实验是评价中枢神经系统兴奋状态的一项重要指标<sup>[6]</sup>。本实验结果显示,S可减少幼小鼠自主活动次数,提示其可抑制神经系统兴奋性。周美艳等<sup>[7]</sup>用鞘内注射和侧脑室注射的方式证明了S有剂量依赖性的肌松作用,认为吸入麻醉药能引起神经肌肉接头附近中枢神经性松弛,即其对中枢神经系统本身就有一定程度的肌松作用,可降低接头后膜去极化作用敏感性,进而影响终板电位变化,影响小鼠活动功能,但其作用机制仍未探明。本实验中应用GABA<sub>A</sub>受体阻滞药后,对自主活动无明显影响,提示S对神经系统兴奋性的抑制作用与

GABA<sub>A</sub>受体无关。

在避暗实验和跳台实验中,与S组比较,S+Se<sub>3</sub>组幼小鼠末次给药1 d的步入潜伏期、跳下潜伏期均明显延长,错误次数均明显减少( $P < 0.05$ ),说明GABA<sub>A</sub>受体参与了S的致遗忘作用。关于其作用机制的研究,杜溢等<sup>[8]</sup>认为GABA<sub>A</sub>受体介导Cl<sup>-</sup>内流,药物与GABA<sub>A</sub>受体结合后使Cl<sup>-</sup>通道开放的频率增加,使神经元超极化,产生突触前或突触后抑制。王雷等<sup>[9]</sup>实验推测,GABA有可能是吸入麻醉药S镇痛催眠的作用靶点。这些研究结果均从不同角度说明,S的麻醉作用与GABA<sub>A</sub>受体有关,与本实验研究结果具有一致性。本实验中,与S组比较,S+Se<sub>1</sub>组、S+Se<sub>2</sub>组幼小鼠的步入潜伏期、跳下潜伏期、错误次数均无明显变化( $P > 0.05$ ),原因可能是因为S+Se<sub>1</sub>、S+Se<sub>2</sub>组的Se剂量不足造成。

综上,GABA<sub>A</sub>受体是S遗忘作用的重要靶位,但S对中枢神经系统兴奋性的抑制作用与GABA<sub>A</sub>受体无关,提示S的麻醉效应靶位并非单独的GABA<sub>A</sub>受体,具体机制还有待进一步研究。

### 参考文献

- [1] Solt K, Forman SA. Correlating the clinical actions and molecular mechanisms of general anesthetics[J]. *Curr Opin Anaesthesiol*, 2007, 20(4): 300.
- [2] Jia F, Yue M, Chandra D, et al. Isoflurane is a potent modulator of extrasynaptic GABA(A) receptors in the thalamus[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2008, 324(3): 1 127.
- [3] Bonin RP, Orser BA. GABA(A) receptor subtypes underlying general anesthesia[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2008, 90(1): 105.
- [4] 许鹏程,胡志超,戴体俊.安氟烷、异氟烷的遗忘作用及其与γ-氨基丁酸A受体关系的实验研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2009, 25(3): 242.
- [5] 徐淑云,卞如濂,陈修.药理学实验方法学[M]. 3版.北京:人民卫生出版社, 2002: 826-834.
- [6] 涂人顺,张国玺,孙斌辉.关于小鼠自主活动规律的研究[J]. *中国药理学通报*, 2002, 18(4): 464.
- [7] 周美艳,张明阳,刘亚君,等.鞘内注射和侧脑室注射七氟烷对小鼠抓力的影响研究[J]. *中国药房*, 2011, 22(5): 387.
- [8] 杜溢,刘斌.GABA<sub>A</sub>受体与全身麻醉药物作用研究的新进展[J]. *国外医学生理、病理科学与临床分册*, 2002, 22(2): 177.
- [9] 王雷,廖艺聪,李艳,等.咪达唑仑对七氟烷镇痛和催眠作用的影响[J]. *江苏医药*, 2011, 37(7): 752.

(收稿日期:2012-09-22 修回日期:2012-11-05)

《中国药房》杂志——《中国科学引文数据库》(CSCD)来源期刊,欢迎投稿、订阅